

(54) LIPID A MONOSACCHARIDE RELATED SUBSTANCE DEVELOPMENT
BIOLOGICAL ACTIVITY

(11) 62-129292 (A) (43) 11.6.1987 (19) JP

(21) Appl. No. 60-268802 (22) 28.11.1985

(71) TOHO YAKUHIN KOGYO K.K.(1) (72) AKIRA HASEGAWA(2)

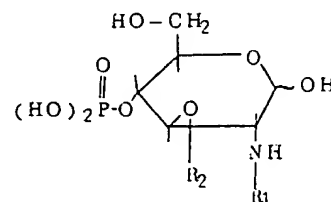
(51) Int. Cl⁴. C07H13/06//A61K31/70,C07H11/04

NEW MATERIAL: A 2-deoxy-2-substituted amino-3-O-substituted-4-O-phosphoryl-D-glucopyranose shown by formula [R₁ is (3-O-dodecanoyl)-tetradecanoyl or (3-O-hexadecanoyl)-tetradecanoyl when R₂ is tetradecanoyl and when one of R₁ and R₂ are 3-hydroxytetradecanoyl, the other is (3-O-tetradecanoyl)-tetradecanoyl].

EXAMPLE: 2-Deoxy-4-O-phosphoryl-3-O-tetradecanoyl-2-[(3-O-dodecanoyl)-tetradecanoylamino]-D-glucopyranose.

USE: An antitumor agent which is expected to have limulus activity, mitogen activity, tumor necrosis induction properties, interferon induction properties, etc.

PREPARATION: For example, benzyl 2-amino-2-deoxy-4,6-O-isopropylidene-β-D-glucopyranoside is used as a starting substance to give the titled substance.



(54) HYDROPHILIC LIPID A MONOSACCHARIDE RELATED SUBSTANCE

(11) 62-129293 (A) (43) 11.6.1987 (19) JP

(21) Appl. No. 60-268803 (22) 28.11.1985

(71) TOHO YAKUHIN KOGYO K.K.(1) (72) AKIRA HASEGAWA(2)

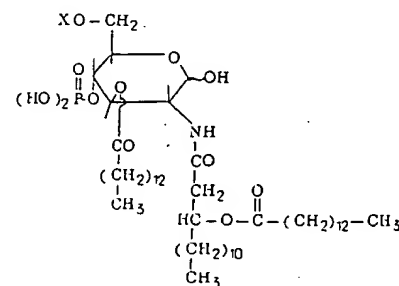
(51) Int. Cl⁴. C07H13/06//A61K31/70,C07H11/04

NEW MATERIAL: A C-6 position-O-substituted substance of 2-deoxy-4-O-phosphoryl-3-O-tetradecanoyl-2-[(racemic type or R type and S type)-3-O-tetradecanoyl]-tetradecanoylamino-D-glucopyranose compound shown by the formula [X is succinic acid (methyl succinate, etc.)].

EXAMPLE: 6-O-(3-Carboxypropanoyl)-2-deoxy-4-O-phosphoryl-2-[(R,S)-3-O-tetradecanoyl]-tetradecanoylamino-3-O-tetradecanoyl-D-glucopyranose.

USE: An antitumor agent, etc.

PREPARATION: For example, OH at C-6 position of benzyl 2-deoxy-4-O-phosphoryl-2-[(R,S)-3-O-tetradecanoyl]-tetradecanoylamino-3-O-tetradecanoyl-β-D-glucopyranoside as a starting raw material is subjected to 3-carboxypropanoylation and debenzylation of OH group at C-1 position of the reaction product and dediphenylation of substituent group at C-4 position are successively carried out.



(54) PRODUCTION OF SUCROSE FATTY ACID ESTER

(11) 62-129294 (A) (43) 11.6.1987 (19) JP

(21) Appl. No. 60-270270 (22) 30.11.1985

(71) DAI ICHI KOGYO SEIYAKU CO LTD (72) KENICHI KINAMI(2)

(51) Int. Cl⁴. C07H13/06,C07H1/00//A23L1/035,C07H3/04

PURPOSE: To obtain the titled substance having low HLB value industrially advantageously, by using dimethyl sulfoxide as a solvent and reacting sucrose with a fatty acid ester in the presence of an alkali catalyst at a specific temperature under pressure condition to finish the reaction, further keeping the state and stirring.

CONSTITUTION: Sucrose is dissolved in dimethyl sulfoxide (DMSO), dehydrated usually preferably 70~80mmHg, blended with 1~3% alkali catalyst (e.g., potassium carbonate, etc.) and dehydrated again. Then the sucrose is reacted with a fatty acid ester at 70~90°C under reduced pressure (e.g., 8~25mmHg) to boil DMSO usually for 0.5~3hr. Then, after the reaction is completed, stirring is continued usually for 1~3hr further while keeping the state to give the aimed substance.

⑩ 日本国特許庁 (J P)

⑪ 特許出願公開

⑫ 公開特許公報 (A)

昭62-129292

⑬ Int. Cl.

識別記号

庁内整理番号

⑭ 公開 昭和62年(1987)6月11日

C 07 H 13/06
// A 61 K 31/70

ABH
ADS
ADU

6971-4C

C 07 H 11/04

審査請求 未請求 発明の数 1 (全5頁)

⑮ 発明の名称 生物活性を発現するリピド A 単糖類縁体

⑯ 特 願 昭60-268802

⑰ 出 願 昭60(1985)11月28日

特許法第30条第1項適用 昭和60年6月10日 社団法人日本農芸化学会発行の「講演要旨集日本農芸化学会昭和60年度大会」に発表

⑱ 発 明 者 長 谷 川 明 岐阜市加野大蔵山1735-160
⑱ 発 明 者 木 曾 真 岐阜県本巣郡本巣町文殊57-47
⑱ 発 明 者 森 原 和 之 大阪府三島郡島本町広瀬5-9-2
⑲ 出 願 人 東宝薬品工業株式会社 大阪市東区淡路町1丁目14番地 八千代ビル
⑲ 出 願 人 長 谷 川 明 岐阜市加賀野大蔵山1735-160
⑲ 代 理 人 弁理士 糟 谷 安

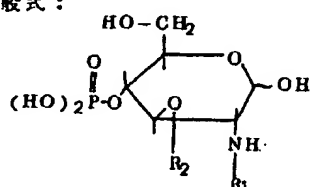
明 細 書

1. 発明の名称

生物活性を発現するリピド A 単糖類縁体

2. 特許請求の範囲

1. 一般式:



で表わされる 2-デオキシ-2-置換アミノ-3-
-O-置換-4-O-ホスホリル-D-グルコピ
ラノース誘導体であって、式中 R₁および R₂で表わ
される置換基が下表の組み合わせよりなる 4 個の
化合物群より選ばれたリピド A 単糖類縁体:

表

化合物	R ₁	R ₂
I	C ₁₄ -O-C ₁₂	C ₁₄
II	C ₁₄ -O-C ₁₆	C ₁₄
III	C ₁₄ -O-C ₁₄	C ₁₄ -OH
IV	C ₁₄ -OH	C ₁₄ -O-C ₁₄

ここに、

C₁₄ : テトラデカノイル基、

C₁₄-OH : 3-ヒドロキソテトラデカノイル基、

C₁₄-O-C₁₄ : (3-O-テトラデカノイル)
-テトラデカノイル基、

C₁₄-O-C₁₂ : (3-O-ドデカノイル)-
テトラデカノイル基、

C₁₄-O-C₁₆ : (3-O-ヘキサデカノイル)
-テトラデカノイル基

を意味するものとする。

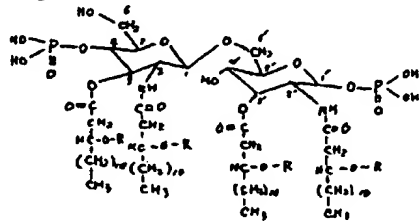
3. 発明の詳細な説明

(産業上の利用分野)

一般に、グラム陰性菌の細胞壁外膜に局在する
リポ多糖 (L P S と略称される) は古くから内毒
素の主成分として知られ、抗腫瘍性を含むさま
ざまな生物活性を発現することが知られていたが、
その化学的、生物学的多様性、不均一性に加えて
物理性の複雑さが単離、精製を困難にし、研究の
大きな妨げとなっていた。

(従来の技術)

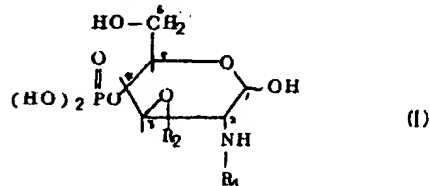
このリポ多糖のリポイド成分を構成するリポド A なる物質は有機化学の積極的な介入により 1983 年に次配するような新構造式が一応確立され、この複雑な構造式中の生物活性発現に関与する部位を明らかにするための研究が開始されつつある。



(R₁ H または C₁₂ ~ C₂₂ 炭化水素)

この化学構造の特徴は β -1,6' 結合した 2 個のグルコサミン骨格のアミノ基並びに C-3,3' 位の水酸基に 3-ヒドロキシミリスチン酸 ($\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{10}-\text{CH}(\text{OH})-\text{CH}_2-\text{COOH}$ すなわち 3-ヒドロキシーテトラデカン酸とも呼ばれる) がア

本発明の目的化合物は次の一般式で表わされる：



上式中、R₁ は便宜上仮に C₁₄-O-C₁₂ で表わされる (3-O-ドデカノイル)-テトラデカノイル基、同様に C₁₄-O-C₁₆ で表わされる (3-O-ヘキサデカノイル)-テトラデカノイル基、同様に C₁₄-O-C₁₄ で表わされる (3-テトラデカノイル)-テトラデカノイル基及び同様に C₁₄-OH で表わされる (3-ヒドロキシ)-テトラデカノイル基を意味するものとし、R₂ は便宜上仮に C₁₄ で表わされるテトラデカノイル基、同様に C₁₄-OH または C₁₄-O-C₁₄ で表わされる基を表わすものとし、更に具体的には前記 I 式において次の置換基を有するものを示すものである：

ミド及びエステル結合し、さらに C-1,4 位にリン酸基を有する両親媒性のユニークな分子構造を有する特異なものである。この 2 個のグルコサミン骨格の向って左側が非還元性サブユニットと呼ばれる部分である。

(発明の構成)

本発明者らは、リポド A の特異な生物活性を発現する最小構造並びに部位を究明する目的をもって、まずその非還元側サブユニットの様々な類似体の合成を試み、その成果の一部は本発明者らにより特開昭 59-249019 号、同-249020 号および同 60-15210 号等をもって特許出願を行なったが、それらの新規物質中の若干のものに強弱の差はあるがリムス活性、マイトゲン活性、脂肪癌死因子誘発性、インターフェロン誘発性などの天然リポド A と類似の強い活性が見られることを確かめ得て、更に有用な類似体に到達すべく検索を進めつつある。

本発明は、かかる研究の線に沿って得られた新規化合物を提供することに関する：

表

化合物	置 換 基	
	R ₁	R ₂
I	C ₁₄ -O-C ₁₂	C ₁₄
II	C ₁₄ -O-C ₁₆	C ₁₄
III	C ₁₄ -O-C ₁₄	C ₁₄ -OH
IV	C ₁₄ -OH	C ₁₄ -O-C ₁₄

実施例 1 化合物 I : 2-デオキシ-4-O-ホスホリル-3-O-テトラデカノイル-2-[(3-O-ドデカノイル)-テトラデカノイルアミノ]-D-グルコピラノースの製造

(a) ベンジル 2-デオキシ-2-[(3-O-ドデカノイル)-テトラデカノイルアミノ]-4,6-イソプロピリデン- β -D-グルコピラノシドの製造 (出発化合物の C-2 アミノ基の (3-O-ドデカノイル)-テトラデカノイル化)

公知化合物 ベンジル 2-デオキシ-2-アミノ-4,6-イソプロピリデン- β -D-グル

コピラノシド(350g)を無水ジオキサン(5ml)に溶解し、(3-ラウリルオキシ)-ミリスチン酸(320g)とジシクロヘキシルカルボジイミド(470g)を加え、室温にて4時間攪拌した。反応終了を薄層クロマトで確認した後、析出したDCG-尿素を伊別し、母液を減圧濃縮して得られたシラップ体をカラムクロマトグラフィー[Wako gel C-300]に供し、流出液(クロロホルム:メタノール=500:10/1)により題記の化合物291.1gを40%の収率で単離した。

$[\alpha]_D - 46.10^\circ$ (C 2.991, クロロホルム)

融点 52~53°C (無晶形)

IR_{max}^{film} cm^{-1} : 3600-3200 (OH, NH), 3000-2800 (CH_2), 1740 (C=O), 1650, 1550 (アミド), 860 (Me_2C)

NMRデータ(90MHz, CDCl_3) δ : 0.7-1.0 (t, 6H, CH_3), 1.05-1.35, 2.1-2.5 (m, 42H, CH_2), 6.4 (d, 1H, NH), 7.54 (s,

- [Wako gel C-300]に供し、流出液クロロホルム:メタノール=100:1により目的化合物(349.9g)を93%の収率で合成した。

$[\alpha]_D - 33.02^\circ$ (C=2.059, クロロホルム:メタノール=1:1)

融点 63~65°C

IR_{max}^{film} cm^{-1} : 3600-3200 (NH), 3000-2800 (CH_2), 1740 (C=O), 1660, 1530 (アミド), 860 (Me_2C)

NMRデータ(90MHz, CDCl_2) δ : 0.75-1.0 (t, 9H, CH_3), 1.0-1.3, 2.05-2.5 (m, 66H, CH_2), 1.35-1.45 (2s, 6H, Me_2C), 6.15 (d, 1H, NH), 7.28 (s, 5H, ph)

(c)ベンジル 2-デオキシ-2-[(R,S)-3-O-ドデカノイル]-テトラデカノイルアミノ-3-O-テトラデカノイル-β-D-グルコピラノシドの製造[脱イソプロピリデン化]

前工程で得られた化合物(349.9g)を90%硫酸及びクロロホルム-メタノールの混合溶媒

5H, ph)

元素分析: $\text{C}_{42}\text{H}_{71}\text{O}_8\text{N}$ (718.03)として

計算値: C, 70.26; H, 9.97; N, 1.95

(b)ベンジル 2-デオキシ-2-[(R,S)-3-O-ドデカノイル]-テトラデカノイルアミノ-4,6-O-イソプロピリデン-3-O-テトラデカノイル-β-D-グルコピラノシドの製造[C-3位ヒドロキシル基のテトラデカノイル化]

前工程で得られた化合物(290g)をピリジン:ジクロロメタン=2:1の混合溶媒(6ml)に溶解し、ジメチルアミノピリジン(100g)を加え、氷冷下、あらかじめ少量のジクロロメタンに溶解したミリスチン酸クロライド(320g)を滴下し、室温にて4時間攪拌した。反応終了を薄層クロマトで確認した後、メタノールを加え、反応液を減圧濃縮し、クロロホルム抽出を行なった。クロロホルム層を氷冷下2N-塩酸、水の順に洗浄し、硫酸ソーダにより脱水し、減圧濃縮した。得られたシラップをカラムクロマトグラフィー

に溶解し、45°Cで攪拌した。反応終了を薄層クロマトにて確認した後、反応液を減圧濃縮し、得られたシラップをカラムクロマトグラフィー[Wako gel C-300]に供し、流出液クロロホルム:メタノール=100:1(10/1)により題記の化合物(298.9g)を89%の収率で得た。

$[\alpha]_D - 24.48^\circ$ (C=2.989, クロロホルム)

IR_{max}^{film} cm^{-1} : 860 (Me_2C)のピークの消失を確認、3600-3500 (OH), 3300-3100 (NH)

NMRデータ(90MHz, CDCl_3) δ : 0.7-1.0 (t, 9H, CH_3), 1.0-1.7, 2.1-2.5 (m, 66H, CH_2), 6.15 (d, 1H, NH), 7.1 (s, 5H, ph)

(d)ベンジル 2-デオキシ-2-[(R,S)-3-O-ドデカノイル]-テトラデカノイルアミノ-3-O-テトラデカノイル-6-O-トリチル-β-D-グルコピラノシドの製造[C-6ヒドロキシル基のトリチル化]

前工程で得られた化合物(298.9g)を無水ピリジン(4.0ml)に溶解し、トリチルクロライド(135g)を加え、90℃にて加熱還流下攪拌した。反応終了を薄層クロマトにて確認した後、メタノールを加え、減圧濃縮し、クロロホルム抽出を行なった。クロロホルム層を氷冷下、2N-塩酸、飽和炭酸ソーダ、水の順に洗浄し、硫酸ソーダにて脱水し、減圧濃縮した。得られたシラップをカラムクロマトグラフィー[Wako gel C-300]に供し、流出液クロロホルム:メタノール=250:1(v/v)により上記の化合物(378.8g)を99%の収率で得た。

$[\alpha]_D^{25} + 2.62^\circ$ (C=0.908, クロロホルム)
 $IR_{\text{max}}^{\text{film}}$: 3600-3200 (OH, NH), 3200-3000, 800-650 (ph), 3000-2800 (CH₂), 1740 (C=O), 1650, 1550 (アミド)
 NMR データ (90MHz, CDCl₃) δ : 0.75-1.0 (t, 9H, CH₃), 1.05-1.75,

て脱水し、減圧濃縮した。得られたシラップをメタノールに溶解し、あらかじめ予備還元したパラジウム炭素(100g)を加えて一夜水素添加を行なった。反応終了を薄層クロマトにて確認した。パラジウムを識別し、母液と洗液を合わせて減圧濃縮して得られたシラップをカラムクロマトグラフィー[Wako gel C-300]に供し、(i)クロロホルム、(ii)クロロホルム:メタノール=250:1(v/v)、(iii)クロロホルム:メタノール=100:1(v/v)、(iv)クロロホルム:メタノール=50:1(v/v)、を溶出液として用いた。(i)の流出液より上記の化合物(42.5g)を収率12.3%で得た。また、(iv)の流出液より上記の化合物のC-4位にリン酸基が無い化合物を回収した。

$[\alpha]_D^{25} + 2.35^\circ$ (C=0.425, クロロホルム:メタノール=1:1)
 $IR_{\text{max}}^{\text{film}}$: 3600-3200 (OH, NH), 3000-2800 (CH₂), 1740 (C=O), 1650, 1550 (アミド), 1590, 1500, 960 (PO ph), 800-680 (ph)

NMR データ (90MHz, CDCl₃) δ : 0.7-

2.1-2.5 (m, 6.6H, CH₂), 5.9 (d, 1H, NH), 7.1-7.55 (m, 2.0H, ph)

元素分析: C₇₂H₁₀₇O₉N₁ (1130.65) として、

計算値: C, 76.49; H, 9.54; N, 1.24

(e) 2-デオキシ-4-O-ジフェニルホスホリル-3-O-テトラデカノイル-2-[(R,8)-3-O-ドデカノイル]-テトラデカノイルアミノ-D-グルコピラノースの製造(脱ベンジル化および脱トリチル化とC-4ヒドロキシル基のジフェニルホスホリル化)

前工程で得られた化合物(378.8g)をピリジン:ジクロロメタン=2:1の混合溶媒(3ml)に溶解し、ジメチルアミノピリジン(83g)を加え、氷冷下攪拌する。あらかじめ少量のジクロロメタン(0.5ml)に溶解したジフェニルリン酸クロライド(320g)を滴下した。その後室温にて18時間攪拌した後、クロロホルム抽出を行なった。クロロホルム層を氷冷下、2N-塩酸、飽和炭酸ソーダ、水の順に洗浄し、硫酸ソーダに

1.0 (t, 9H, CH₃), 1.0-2.5 (m, 6.6H, CH₂), 6.15 (t, 1H, NH), 7.0-7.4 (m, 1.0H, ph)

(f) 最終工程(ジフェニルホスホリル基の脱ジフェニル化)

前工程で得た化合物(42g)をメタノール・エタノール混合溶媒に溶解し、あらかじめ予備還元した酸化白金(PtO₂, 30g)を加え水素添加を行なった。18時間反応させ、反応終了を薄層クロマトにて確認した後、酸化白金をセライト濾過し、クロロホルム:メタノール=1:1(v/v)、熱メタノールにて洗浄し、母液と洗液を合わせて減圧濃縮し、かきとり用プレパラート(Kiesel gel)を用いて、クロロホルム:メタノール=5:1(v/v)にて展開し、クロロホルム:メタノール=1:1(v/v)にて1.5時間抽出を行ない、ゲルを識別し、母液と洗液を合わせて減圧濃縮して凍結乾燥して上記した目的化合物(15.6g)を収率44%にて合成した。

元素分析: C₄₆H₈₈O₁₂NP (878.18) として

計算値：C、62.92；H、10.10；N、1.60
 $\text{IR}_{\text{max}}^{\text{KBr}} \text{cm}^{-1}$ ：3600-3000 (OH, NH)、
 3000-2800 (CH_2)、1740 ($\text{C}=\text{O}$)、
 1650、1550 (アミド)

実施例1の工程(e)→(f)と同一の合成原理及び反応順序を適用して下記3化合物が合成された。

化合物Ⅱ：2-デオキシ-4-O-ホスホリル-3-O-テトラデカノイル-2-[(R, S)-3-O-ヘキサデカノイル]-テトラデカノイルアミノ-D-グルコピラノース

元素分析： $\text{C}_{50}\text{H}_{96}\text{O}_{12}\text{NP}$ (903.52) として
 計算値：C、64.28；H、10.56；N、1.50

その最終工程の出発化合物である2-デオキシ-4-O-ジフェニルホスホリル-3-O-テトラデカノイル-2-[(R, S)-3-O-ヘキサデカノイル]-テトラデカノイルアミノ-D-グルコピラノースの物性値は次の通りである：
 $[\alpha]_{\text{D}} + 1.82^\circ$ (C=0.989、クロロホルム)

計算値：C、62.51；H、10.05；N、1.52
 実測値：C、62.39；H、10.23；N、1.52

化合物Ⅲ：2-デオキシ-2-(3-ヒドロキシテトラデカノイルアミノ)-4-O-ホスホリル-3-O-[(3-O-テトラデカノイル)-テトラデカノイル-D-グルコピラノース]
 $[\alpha]_{\text{D}} + 7.69$ (C=0.442、クロロホルム)
 $\text{IR}_{\text{max}}^{\text{NaCl}} \text{cm}^{-1}$ ：3600-3100 (OH, NH)、
 1720 (エステル)、1630、1540 (アミド)

元素分析： $\text{C}_{48}\text{H}_{92}\text{NO}_{13}$ (922.23) として
 計算値：C、62.51；H、10.05；N、1.52
 実測値：C、62.44；H、10.18；N、1.50

なお、これら化合物Ⅱ～Ⅳは、いずれも実施例1の公知出発物質と同一のベンジル 2-アミノ-2-デオキシ-4,6-O-イソプロピリデン-β-D-グルコピラノシドを出発化合物として順次合成される。

：メタノール=1：1)

$\text{IR}_{\text{max}}^{\text{film}} \text{cm}^{-1}$ ：3600-3200 (OH, NH)、
 3000-2800 ($-\text{CH}_2-$)、1740 ($\text{C}=\text{O}$)、
 1650、1570 (アミド)、1590、1500 (PO₄)、960 (PO₄)

NMR データ (90MHz, CDCl_3) δ：0.7-1.0 (t, 9H, CH_3)、1.0-2.5 (m, 74H, CH_2)、6.2 (t, 1H, NH)、7.1-7.5 (m, 10H, Ph)

化合物Ⅳ：2-デオキシ-3-O-(3-ヒドロキシテトラデカノイル)-4-O-ホスホリル-2-[(3-O-テトラデカノイル)-テトラデカノイルアミノ]-D-グルコピラノース
 $[\alpha]_{\text{D}} + 8.76$ (C=0.616、クロロホルム)
 $\text{IR}_{\text{max}}^{\text{NaCl}} \text{cm}^{-1}$ ：3600-3200 (OH, NH)、
 1720 (エステル)、1640、1540 (アミド)

元素分析： $\text{C}_{48}\text{H}_{92}\text{NO}_{13}$ (922.23) として

(発明の効果)

本発明の化合物はリムスル活性、マイトゲン活性、腫瘍壊死誘発性、インターフェロン誘発性など天然リビドAが具有している特異な生物活性を一部または全部一層強く発揮することを期待される有望物質であり、詳細な薬理実験が本発明者らにより進行中のものである。

(以下余白)